

Acção do leite fresco—crú ou fervido, e do leite fermentado, sobre o intestino perfundido segundo o methodo de Cohnheim - Magnus *

por

Antonio Augusto Xavier e Genesio Pacheco

(Com 8 figuras no texto)

Apezar do leite, no qual vegetára o bacillo *coli*, não parecer influir de modo sensível sobre a curva de peso dos animaes aos quaes fôra ministrado por via digestiva, varios dias consecutivamente, não se pôde afastar, só por isso, a possibilidade de ser esse alimento, assim alterado, altamente nocivo para o organismo que o ingere. Influencias de outra natureza pôdem occorrer, exigindo novas investigações para esclarece-las.

Em trabalho anterior mostrámos a actividade physiologica dos filtrados de culturas antigas de bacillo *coli* sobre uma preparação de intestino isolado e perfundido segundo Cohnheim-Magnus. Utilizando esse methodo foi possivel demonstrar uma acção perfeitamente caracterizada, exercida pelos filtrados de cultura de bacillo *coli* sobre o *tonus* da musculatura do segmento de intestino, cujas consequencias, sobre o intestino, *in-vivo*, devem ter certa significação.

O objecto do presente trabalho é referir alguns resultados obtidos com esse mesmo metodo, utilizando agora amostras de leite semeado com bacillo *coli* e com bacillo *aerogenes*, e ensaiando comparativamente amostras de leite fresco — crú ou fervido.

EXPERIENCIAS

Technica. — Leite logo depois de mungido era distribuido em tubos, esterilizado por fervura prolongada, deixado esfriar e semeado depois com bacillo *coli*. Após 6 a 24 horas, quando apresentava reacção francamente acida ao tornasol e abundancia de bacillos ao exame microscopico, era utilizado nas experiencias. Outros tubos, contendo leite crú, original, não fervido, ou leite fervido a 100° cerca de 5 m., eram conservados na geladeira, até o momento dos ensaios na preparação de intestino isolado e perfundido. A technica para esses ensaios foi descripta em trabalho anterior.

* Recebido para publicação a 20 de Abril de 1938 e dado á publicidade em Outubro de 1938.

Transcrevemos a seguir alguns protocollos de experiencias. Examinaremos successivamente o modo de reagir da preparação de intestino isolado:

- a) — dos coelhos normaes;
- b) — dos animaes tratados por via digestiva, *intra-vitam*, com filtrado de culturas antigas de bacillo *coli*.
- c) — dos animaes tratados com leite fermentado pelo bacillo *coli*;
- d) — dos animaes tratados com leite fresco — crú ou fervido.

I — COELHOS NORMAES¹

Protocollo n. V.

1937. 18 de Março. Coelha n.º 76 c, pesando 1.320 grs.

Installa-se, segundo a technica já referida em trabalho anterior, a preparação de segmento de intestino, que entra logo em actividade, a alavanca inscrevendo no cylindro enfumaçado energicas contracções rhythmicas. Após funcionamento de adaptação durante approximadamente 10 minutos, inicia-se a série de ensaios com as differentes amostras de leite, a preparação sendo abundantemente lavada com solução de Ringer-Tyrode a cada nova experiencia. Em geral um intervallo de 5 a 6 minutos decorria entre um e outro ensaio.

- 1) — Addiciona-se ao banho perfusôr 1 cc. de leite fresco, nenhuma alteração sendo observada, quer quando ao *tonus* da preparação, quer quanto ao numero e amplitude de suas contracções.
- 2) — Lavada a preparação, infunde-se no banho 1 cc. de leite naturalmente fermentado, adquirido em venda avulsa. Não houve alteração do *tonus*, mas a amplitude dos movimentos pendulares augmentou do simples ao dobro.
- 3) — Substituida a solução de Ringer-Tyrode, ajunta-se ao banho 1 cc. de leite esteril, no qual vegetára bacillo *coli* durante 6 horas. Não ha alteração do *tonus*; observa-se augmento bastante apreciavel da amplitude das contracções (Fig. 1, traçado 1), comparavel com o da experiencia n.º 2, obtido com leite fermentado naturalmente.
- 4) — Repetida a experiencia, observam-se aquellas mesmas alterações, verificando-se agóra um insignificante augmento do *tonus* da preparação (Fig. 1, traçado 2).

¹ Chamamos "normal" coelhos virgens de experiencias ou de inoculações anteriores.

- 5) — Adicionando-se ao banho 1 cc. de acido lactico (Böhringer & Söhne, Mannheim) diluido de modo a se obter a concentração presente no leite fermentado, observou-se ligeiro augmento do *tonus*, e augmento bastante apparente da amplitude das oscillações phasicas (Fig. 1, traçado 3).
- 6) — Repetida a experiencia, observou-se resultado analogo (Fig. 1, traçado 4).

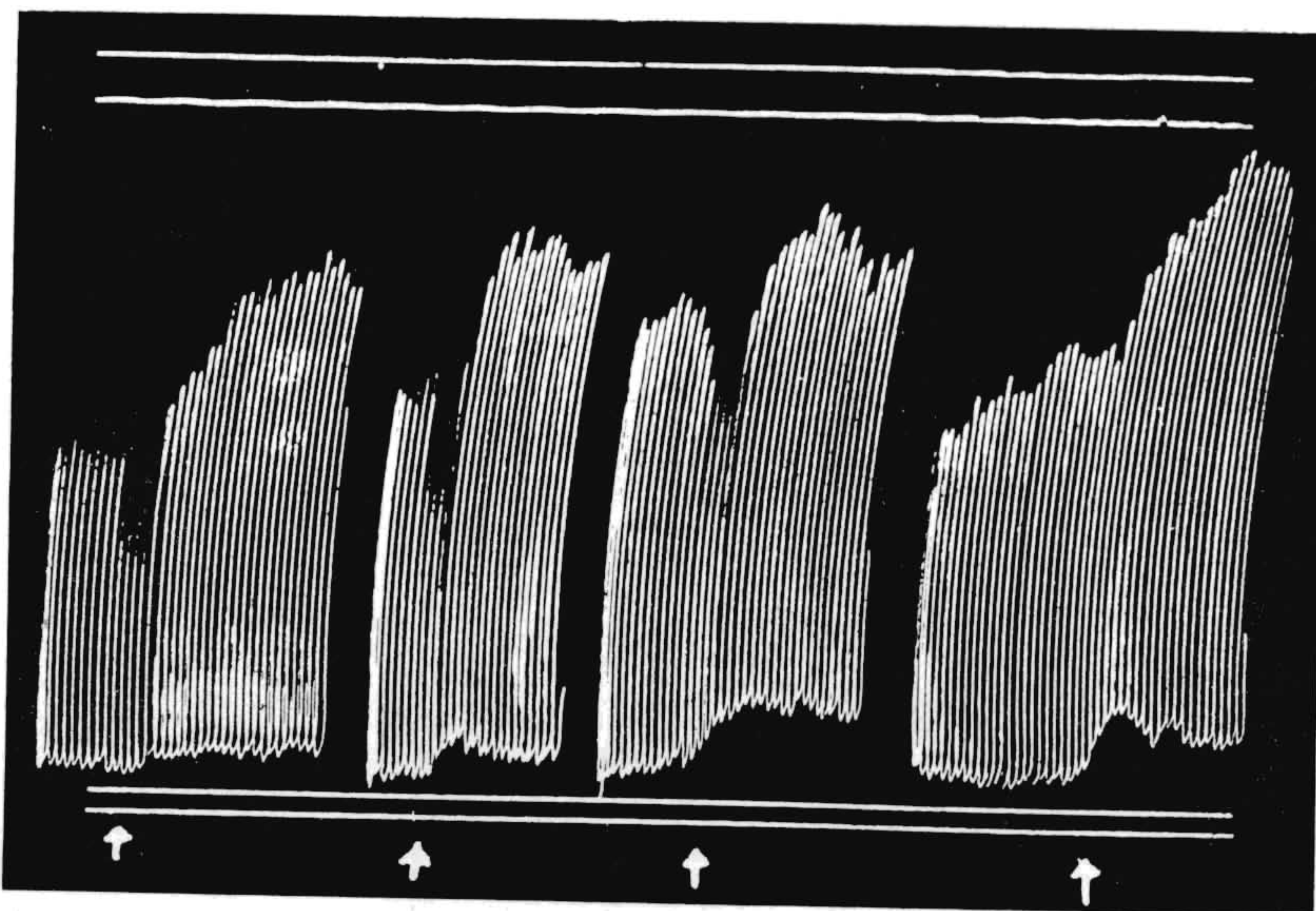


Fig. 1 — Traçados 1, 2, 3 e 4 (numerados da esquerda para a direita).
1 cm. da abscissa = 1 minuto.

Nota — A explanação dos traçados é feita no texto.

- 7) — Experimentada a actividade do leite semeado 5 horas antes com bacillo *aerogenes*, verifica-se augmento do *tonus* do segmento de intestino, muito mais energico do que o observado com o leite semeado com bacillo *coli* (Exp. 4, deste protocollo).
- 8) — Renovada a solução de Ringer-Tyrode, infunde-se agóra 1 cc. de toxina *coli* antiga: o segmento de intestino reage de maneira caracteristica.

Protocollo n. XXXVII.

1937. 10 de Setembro. Coelha pesando 1.775 grs.

Segmento de intestino suspenso em Ringer-Tyrode, oxygenado e aquecido a 38° C., um intervallo de cerca de 20 minutos decorrendo entre a instalação da preparação e o inicio das experiencias.

- 1) — Adiciona-se ao banho no qual está immersa a preparação 1 cc. de leite fresco, não fervido. Não se observa alteração do *tonus*, tão pouco modi-

ficações da amplitude das contracções rhytmicas. Ao cabo de 1 1/2 minutos, sem renovar o banho perfusôr, junta-se mais 1 cc. da mesma amostra de leite. Do mesmo modo como no ensaio precedente, nunhuma reacção foi observada (Fig. 2).

- 3) — Substituido o liquido de Ringer-Tyrode, junta-se ao banho 1 cc. de leite fresco, fervido durante 5 minutos. Alteração insignificante do tonus e da amplitude das oscillações phasicas. Repetido o ensaio nas condições da experiencia anterior, isto é, sem renovar préviamente o banho de Ringer-Tyrode, observou-se reacção identica.

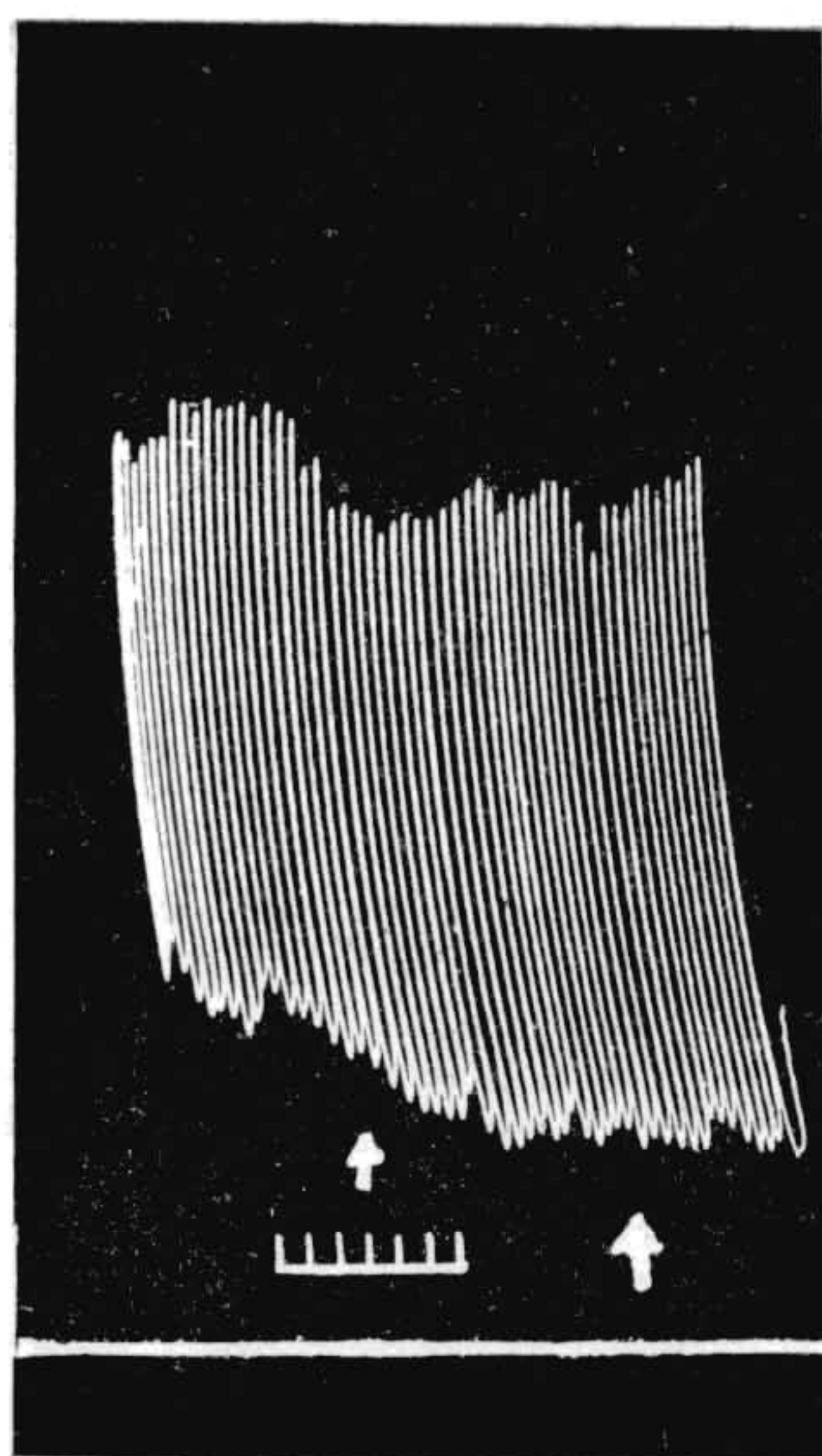


Fig. 2 — 1 ccm. de leite fresco, não fervido, adicionado por duas vezes ao banho perfusor. Tempo = 1 minuto.

- 4) — Ensaçada novamente a amostra de leite fresco, não fervido, observou-se inexpressiva alteração do tonus de posição do preparado, entretanto aumento bastante consideravel da amplitude das oscillações phasicas. Repete-se o ensaio com essa mesma amostra de leite, sem renovar a solução de Ringer-Tyrode, com o mesmo resultado.
- 5) — Renovada a solução de Ringer-Tyrode, infunde-se agóra 1 cc. de leite semeado 6 horas antes, após prévia fervura, com a amostra *coli* 267. Observa-se leve augmento do tonus, entretanto augmento nitido da amplitude das oscillações phasicas (como na experiencia 4, deste protocollo). Adicionou-se, sem prévia renovação do banho perfusôr, mais 1 cc. da mesma amostra de leite semeado com bacillo *coli* 267. O resultado foi um incremento nitido do tonus de posição do preparado, reacção essa persistindo após renovação do banho de Ringer-Tyrode.

- 6) — Substituído o líquido de Ringer-Tyrode, adiciona-se 1 cc. de leite semeado 6 horas antes com bacillo *coli* CC, isolado do leite do commercio. Observa-se augmento subito e bastante apreciavel do tonus, mas a amplitude das contracções rhythmicas diminuiu sensivelmente, para augmentar depois, de modo consideravel, quando da addição de mais 1 cc. dessa mesma amostra de leite, agora sem prévia renovação da solução de Ringer-Tyrode.
- 7) — Renovado o banho perfusôr, repetem-se as experiencias precedentes (n.º 6), com o mesmo resultado. O hypertono persiste após renovação do banho perfusôr e só desaparece quando mais uma vez se substitue a solução de Ringer-Tyrode.
- 8) — Substitue-se o líquido Ringer-Tyrode e ensaia-se ainda uma vêz a amostra de leite fresco, não fervido. A experiencia é feita nas mesmas condições como foi conduzida na experiencia 4, deste protocollo, e as reacções observadas são exactamente as mesmas.
- 11) — Renovado o banho Ringer-Tyrode e ensaiado o filtrado *coli* 295, para se avaliar da capacidade de reacção do segmento de intestino, a resposta é característica e muito energica. O hypertono persiste, máo grado substituição do líquido de Ringer-Tyrode.

II. COELHOS TRATADOS COM FILTRADOS DE BACILLO *COLI* POR VIA DIGESTIVA

Protocollo n. IV.

1937. 16 de Março. Coelho 75c pesando 975 grs.

Ingeriu de 0.5 cc. a 1 cc. de filtrado de bacillo *coli*, dóse repetida 5 vezes, num espaço de 8 dias, antes de sacrificado para as experiencias. Segmento de intestino suspenso em Ringer-Tyrode, segundo a technica habitual e observadas as demais condições das experiencias.

- 1) — Adiciona-se ao banho 1 cc. de filtrado de cultura de 20 dias de bacillo *coli*. Reacção característica, mas não muito energica.
- 2) — Adiciona-se ao banho 1 cc. de leite coagulado por excesso de fermentação natural. Observa-se um augmento da amplitude das contracções phasicas (cerca de 3 vezes o valôr inicial). Não ha alteração do tonus.
- 3) — Renovado o banho perfusôr e repetida a experiencia com essa mesma amostra de leite naturalmente fermentado observou-se augmento notavel do tonus e grande augmento da amplitude das contracções rhythmicas. (Fig. 3).

- 5) — Renovada a solução de Ringer-Tyrode adicionou-se ao banho 1 cc. de leite semeado com bacillo *aerogenes* 6 horas antes, e conservado a 37° até o momento da experiencia, quando se apresentava francamente acido ao tornasol. Observou-se augmento consideravel do *tonus* e augmento apreciavel da amplitude das contracções rhythmicas (Fig. 4, traçado 1).
- 6) — Neutralizado o leite fermentado pelo bacillo *aerogenes* por meio de uma solução de hydroxydo de sódio, e então adicionado ao banho, observou-se augmento identico do *tonus*, mas não se constatou augmento na amplitude das contracções rhythmicas. (Fig. 4, traçado 2).

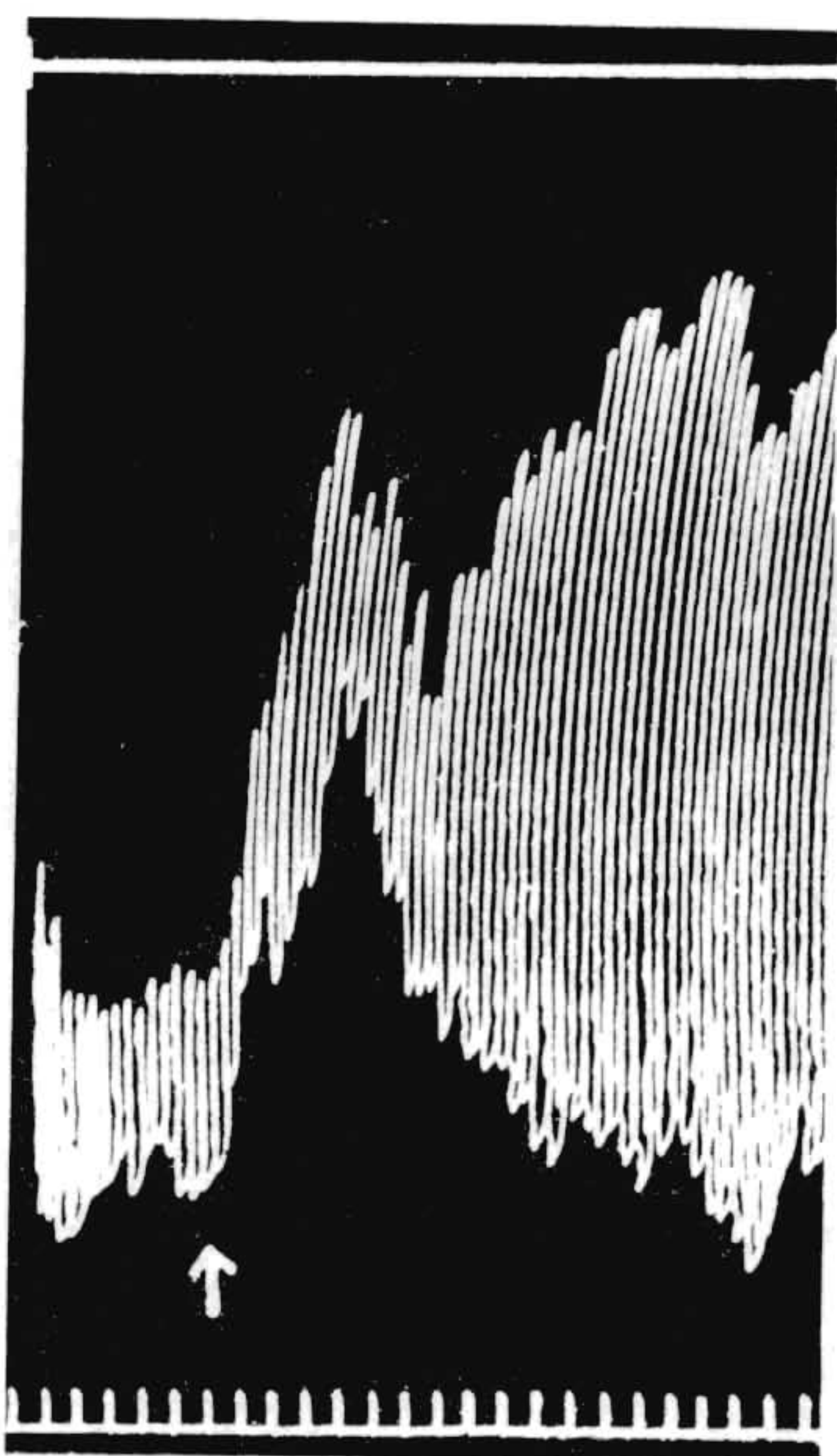


Fig. 3 — 1 cc. de leite naturalmente fermentado. Tempo = 10 segundos.

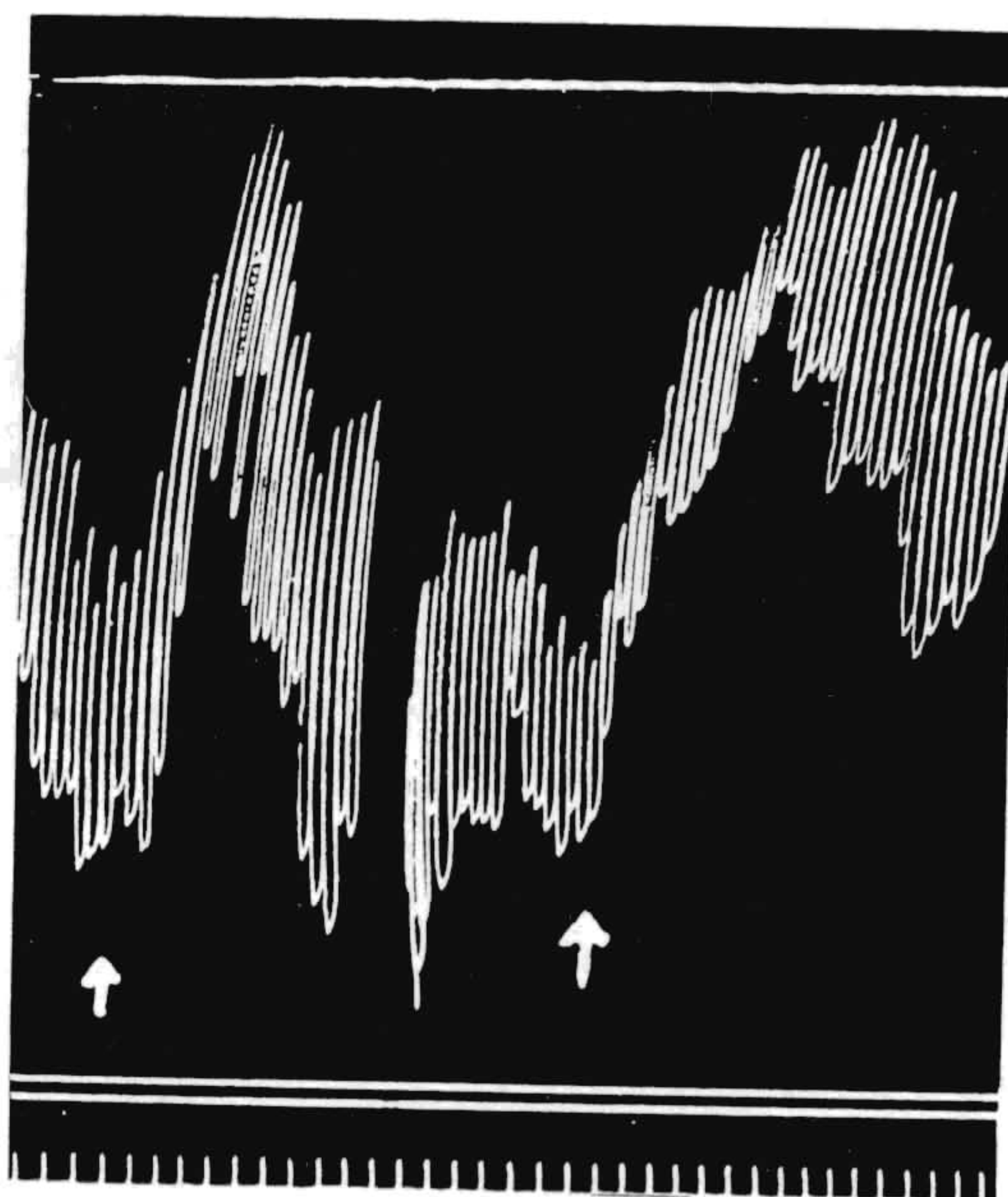


Fig. 4 — Traçados 1 e 2 (numerados da esquerda para a direita). Tempo = 10 segundos.
(Explicação no texto).

- 7) — Novamente substituido o banho de Ringer-Tyrode, adicionou-se 1 cc. de leite do commercio, adquirido em venda avulsa, depois de esterilizado em autoclave (115° durante 15 minutos). Observou-se augmento bastante apreciavel do *tonus* e da amplitude das contracções rhythmicas. (A amostra de leite estava francamente acida ao tornasol e tinha cheiro caracteristico de leite fermentado). (Fig. 5).

[A preparação mostrava agora contracções irregulares e tendencia para elevação progressiva do *tonus*.]

Um novo segmento de intestino do mesmo coelho é installado segundo a technica habitual e mantidas as demais condições das experiencias.

- 8) — Adiciona-se ao banho 1 cc. de leite fresco, não fervido, nenhuma reacção sendo observada.
- 9) — Renovado o banho e repetida a experiencia, igualmente nenhuma reacção se verifica. (Fig. 6, traçado 1).



Fig. 5 — 1 cc. de leite do commercio. 1 cm. da abscissa = 1 minuto.

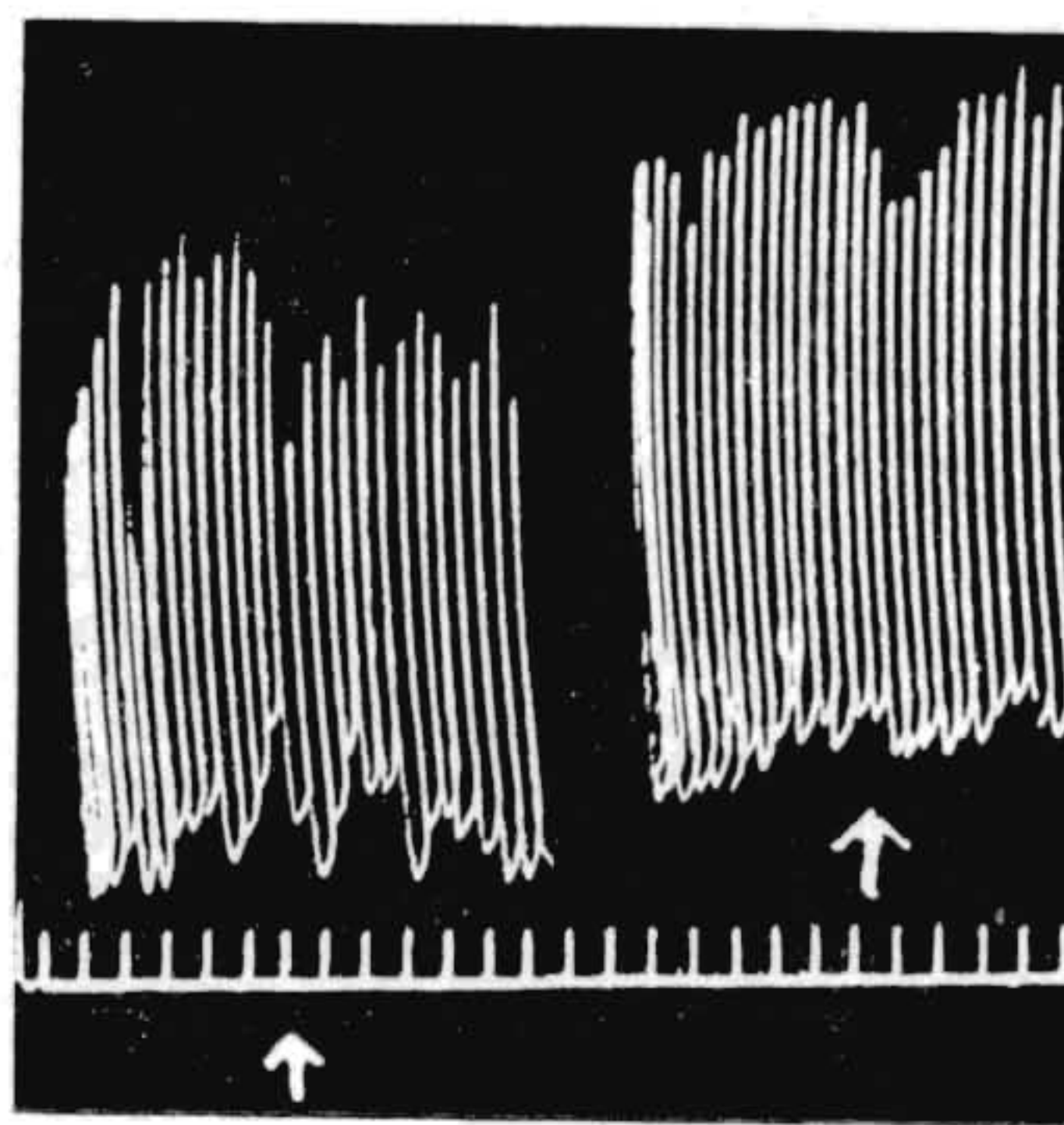


Fig. 6 — Traçados 1 e 2 (numerados da esquerda para a direita). Tempo = 10 segundos. (Explicação no texto).

- 10) — Do mesmo modo, quando se ensaia a mesma amostra de leite, agora submettido á fervura, durante 5 minutos (fig. 6, traçado 2), nenhuma reacção se observa, quer quanto ao *tonus*, quer quanto á actividade *rhythmica*
- 12) — Renovado o banho perfusôr, infunde-se 1 cc. de leite semeado com bacillo *aerogenes* 6 horas antes. Observa-se augmento do *tonus*, bem assim da amplitude das contracções phasicas.
- 13) — Substituida a solução de Ringer-Tyrode, adiciona-se ao banho 1 cc. de acido lactico (Böhringer & Söhne, Mannheim). Observou-se ligeiro augmento do *tonus*, desacompanhado de augmento da amplitude dos movimentos pendulares.
- 14) — Substituido o banho de Ringer-Tyrode, adiciona-se 1 cc. de leite semeado com bacillo *coli* 6 horas antes e mantido a 37° até o momento da experiencia. Verifica-se consideravel augmento do *tonus*, bem como da amplitude das contracções phasicas (Fig. 7, traçado 1).
- 15) — Neutralizado este leite e experimentado 1 cc. sobre o segmento de intestino préviamente lavado por duas vezes em solução de Ringer-Tyrode, obser-

vou-se o mesmo aumento subito e consideravel do *tonus*, mas sem alteração da amplitude das contracções phasicas. (Fig. 7, traçado 2).

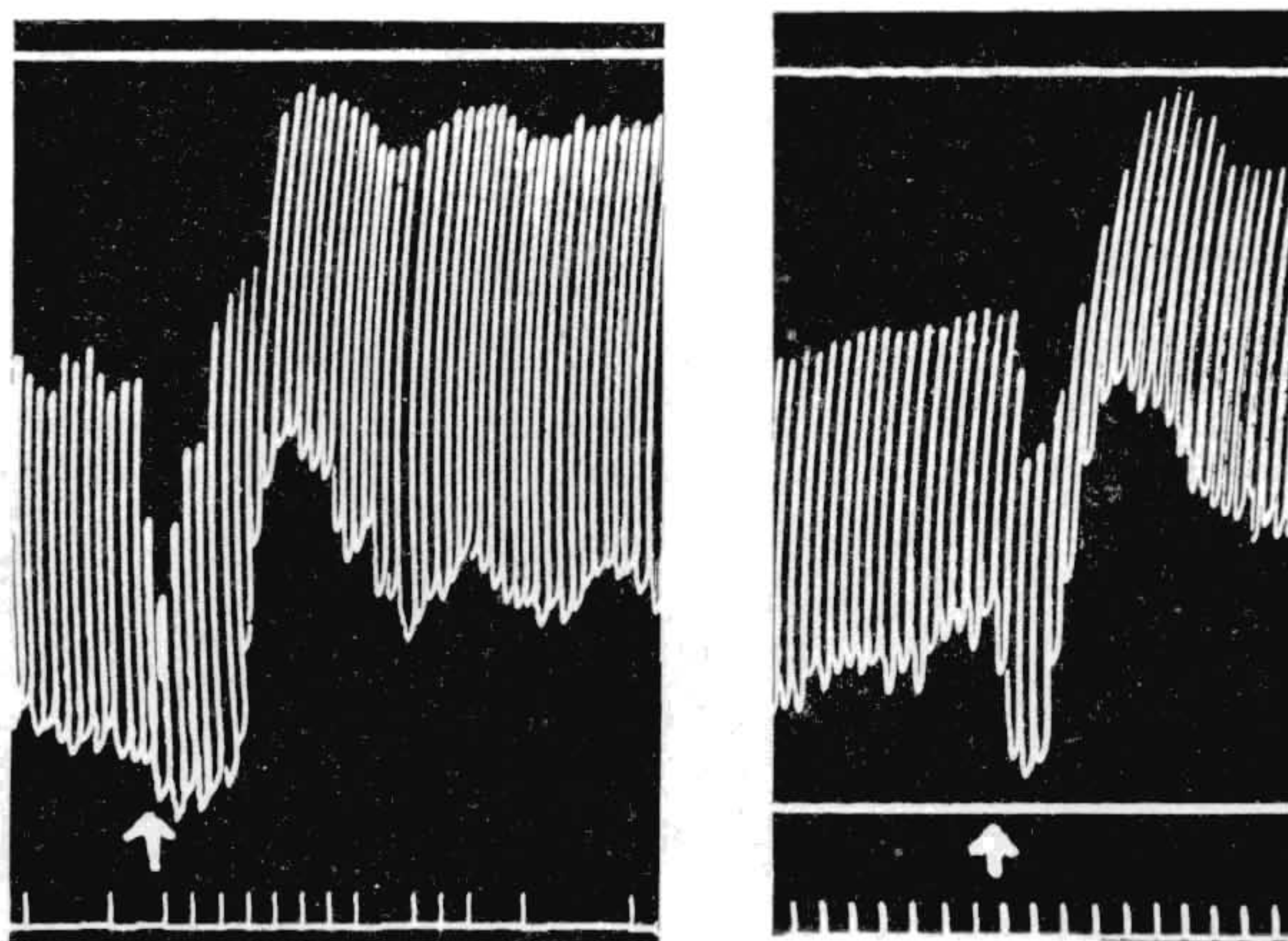


Fig. 7 — Traçados 1 e 2 (numerados da esquerda para a direita)
Tempo = 10 segundos.
(Explicação no texto).

As reacções do segmento de intestino, observadas nesta série de experiencias, foram muito mais energicas do que as obtidas nas experiencias dos protocollos V e XXXVII, com intestino de coelho normal.

III. COELHOS TRATADOS POR VIA DIGESTIVA COM LEITE FERMENTADO PELO BACILLO *COLI*

Protocollo n. X.

1937. 6 de Maio. Coelho 39-c, pesando 2.175 grs.

Ingeriu 2 cc. de leite semeado 6 horas antes com bacillo *coli* (amostra 267), dóse repetida 7 vezes, num espaço de 11 dias, antes de sacrificado para as experiencias. Installa-se a preparação da maneira habitual. Movimentos pendulares de pequena amplitude. Temperatura do banho perfusôr 38°. Ao cabo de uns pequena amplitude. Temperatura do banho perfusôr 38°. Ao cabo de uns 15 minutos de adaptação do segmento de intestino ás condições da experiencia, começam os ensaios.

- 1) — Addiciona-se ao banho 1 cc. de filtrado de cultura antiga de bacillo *coli*. Observa-se elevação muito pouco nitida do *tonus* e aumento apreciavel da amplitude das contracções phasicas.

- 4) — Renovado o banho perfusor, adiciona-se 1 cc. de leite semeado com bacillo *coli* 6 horas antes. Observou-se augmento enorme, do simples ao dobro, da amplitude das contracções rhythmicas. O *tonus* permaneceu inalterado.
- 5) — Substituida a solução de Ringer-Tyrode junta-se 1 cc. de leite fresco, não fervido. Não ha alteração significativa do *tonus*. A amplitude das oscillações phasicas augmenta de modo bastante apreciavel, muito menos consideravelmente, porém, do que na experiencia precedente (n.º 4, deste protocollo).
- 6) — Renovado o banho perfusor, adiciona-se agora 1 cc. de toxina *coli* antiga. Reacção característica e energica, o que demonstra as boas condições de funcionamento da preparação.

IV. COELHOS TRATADOS COM LEITE FRESCO — CRÚ OU FERVIDO, POR VIA DIGESTIVA

Protocollo n. XI.

1937. 6 de Maio. Coelha 37-c, pesando 2.100 grs.

Ingeriu 5 cc. de leite fervido, dóse repetida 7 vezes, num espaço de 11 dias, antes de sacrificada para as experiencias. Segmento de intestino suspenso em Ringer-Tyrode segundo a technica habitual e mantidas as demais condições das experiencias.

- 3) — Adiciona-se ao banho 1 cc. de toxina *coli* (mistura de filtrados) preparada recentemente. O segmento de intestino reage de maneira característica e energica.
- 4) — Renovado o banho perfusor infunde-se 1 cc. de leite fresco não fervido. Observa-se um augmento ligeiro e progressivo do *tonus*. A amplitude das oscillações phasicas augmenta do simples ao dobro. (Fig. 8, traçado 1).
- 5) — Substituida a solução de Ringer-Tyrode adiciona-se ao banho 1 cc. de leite semeado 6 horas antes com bacillo *coli*. Reacção tonica muito mais energica do que a observada na experiencia precedente (n.º 4, deste protocollo). Tambem aqui a amplitude das contracções phasicas soffreu a modificação costumada, os movimentos pendulares tornando-se muito mais largos. (Fig. 8, traçado 2).

Protocollo n. XV.

1937. 18 de Maio. Coelha n.º 38-c, pesando 2.200 grs.

Ingeriu 5 cc. de leite fresco, crú, dóse repetida duas vezes, um periodo de 10 dias decorrendo entre a ultima dóse ministrada e as experiencias.

Installa-se a preparação de segmento de intestino segundo a **technica habitual**. Funcionamento de adaptação em Ringer-Tyrode oxygenado, a 38° C. Ao cabo de 25 minutos começam os ensaios com as diferentes amostras de leite.

- 1) — Adicionado ao banho 1 cc. de leite fresco, não fervido. Permanece inalterado o *tonus*, mas a amplitude dos movimentos pendulares augmenta de 1/3.

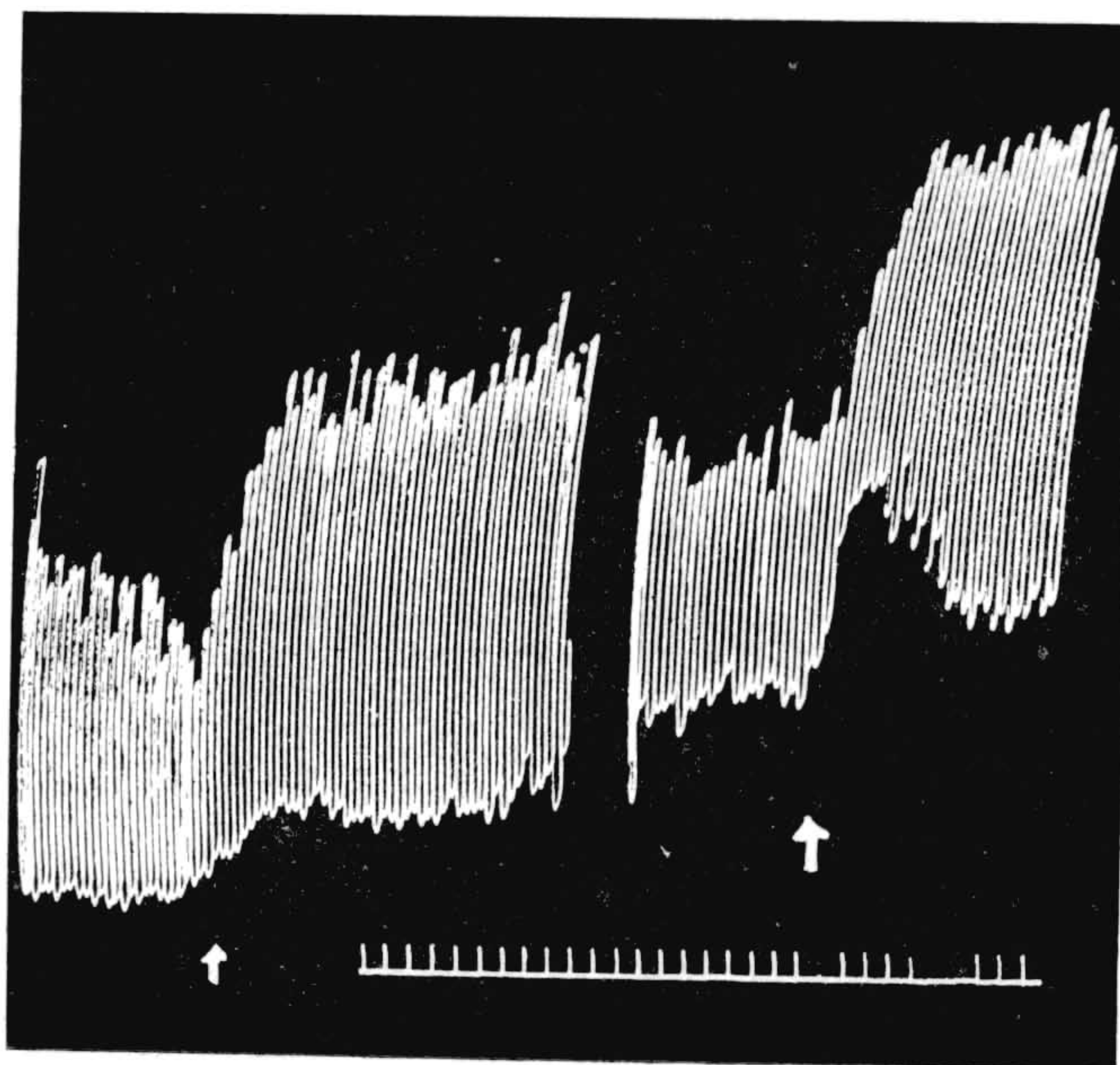


Fig. 8 — Traçados 1 e 2 (numerados da esquerda para a direita).
Tempo = 10 segundos.
(Explicação no texto).

- 8) — Repetida a prova, observou-se ligeiro e fugaz augmento do *tonus*, não visto na experiencia anterior com leite fresco (n.º 1, deste protocollo), e maior augmento, do simples ao dobro, da amplitude das contracções rhythmicas. Entretanto, a preparação mostrava tendencia espontanea á elevação do *tonus*, talvez pelo ter sido submettida antes á acção de diferentes hormonios.
- 9) — Substituido o banho perfusôr e feita nova addição de 1 cc. de leite fresco, não fervido, observou-se, do mesmo modo como na experiencia precedente (n.º 8, deste protocollo), um ligeiro e fugaz augmento do *tonus*, e augmento consideravel da amplitude das contracções phasicas. Não ha retardamento do rhythm dos movimentos pendulares, o que vimos, aliás, observando em todas as experiencias desta e das demais séries.
- 15) — Adiciona-se agora ao banho perfusôr 1 cc. de filtrado de cultura antiga de bacillo *coli*, para ajuizar da actividade da preparação. Reacção característica.

DISCUSSÃO

Acção sobre o intestino isolado. — Havíamos observado anteriormente serem os filtrados de culturas antigas de bacillo *coli* dotados de actividade physiologica sobre o intestino isolado e perfundido, determinando um augmento subito e consideravel do *tonus* da preparação, com persistencia das oscillações phasicas, que augmentavam de amplitude.

Leite fresco — crú ou fervido, não determina alterações do *tonus* do segmento de intestino, modificando tão sómente a amplitude das contracções rhythmicas, augmentadas ao dobro do seu valôr, registado antes da experiencia. Leite fermentado naturalmente, ou artificialmente, pela proliferação de bacillos *coli* ou *aerogenes*, determina augmento bastante apreciavel do *tonus* da preparação e da amplitude das contracções rhythmicas, resultados esses em tudo analogos aos já observados com os filtrados de cultura de bacillo *coli* em caldo peptonado, ressalvada a intensidade dos phenomenos, aqui bem menor do que naquellas experiencias.

A acção do leite fermentado natural ou artificialmente, sobre o *tonus* do segmento de intestino, não parece depender da acidez, desde que a neutralisação do leite fermentado não supprimiu o seu effeito sobre o *tonus* da preparação de intestino.

Do mesmo modo acido lactico (1 cc. de uma solução de acido lactico de theor equivalente ao existente nos leites fermentados, que serviram ás experiencias, expressa em graus Dornic), não determinou alteração significativa do *tonus*, influenciando tão sómente no augmentar a amplitude das oscillações phasicas.

Influencia da sensibilisação do intestino. — A administração prévia, por via digestiva, de leites fermentados natural ou artificialmente, ou de filtrados de culturas de bacillo *coli*, mas principalmente desses ultimos, torna muito mais energeticas, em confronto com as respostas observadas nas preparações de coelhos normaes, as reacções do segmento de intestino, quando nelle ensaiados leites fermentados natural ou artificialmente, ou filtrados de culturas de bacillo *coli*. Parece tratar-se de uma sensibilisação local do intestino a certos productos do bacillo *coli*.

Interessante assignalar que leite fresco — crú ou fervido, não determinou alterações do *tonus*, tão pouco modificações da actividade rhythmica do segmento de intestino. Em relação ao leite fresco — crú

ou fervido, a preparação de « intestino sensibilizado » não reagiu de modo differente das preparações de intestino de coelhos normaes.

Não foi determinado ainda o tempo minimo necessario para a formação desta substancia physiologicamente activa nas culturas de bacillo *coli*, mas as observações feitas com o leite semeado com bacillo *coli* mostram que ella começa de produzir-se dentro de poucas horas, desde que sua acção poude ser demonstrada no leite fermentado pelo bacillo *coli* que nelle vegetára apenas durante 6 horas.

Os filtrados de cultura de bacillo *coli* aquecidos em autoclave a 115° durante 15 minutos, ou mantidos em baixa temperatura (+ 3° C.), conservam sua actividade sobre o intestino. Igualmente os leites fermentados, natural ou artificialmente, não perdem sua actividade, quando aquecidos ou resfriados áquellas mesmas temperaturas.

Mostram as experiencias que, si alguma consequencia para o intestino, *in-vivo*, possa apresentar o leite fermentado, ella não será removida seja qual fôr o processo de conservação do leite assim alterado, tão pouco se modificára com sua neutralisação.

SUMMARIO E CONCLUSÕES

Leite fresco — crú ou fervido nenhuma acção exerce sobre o *tonus* de uma preparação de intestino isolado e perfundido, entretanto determina augmento bastante apreciavel da amplitude das contracções rhythmicas. O leite fermentado, natural ou experimentalmente, pela proliferação de bacillos *coli* ou *aerogenes*, por espaço de 6 a 24 horas, em estufa a 37° C., determina muitas vezes augmento consideravel do *tonus* do segmento de intestino, bem assim augmento da amplitude das oscillações phasicas, em todo caso, uma e outra alteração mostrando-se de modo menos energico do que já observamos com os filtrados de culturas antigas de bacillo *coli*.

A acção sobre o *tonus* não parece depender da acidez do leite fermentado, desde que ella não desaparece com a neutralisação do leite. De outro lado, uma solução de acido lactico do mesmo theôr encontrado no leite fermentado, expresso em graus Dornic, não determina augmento do *tonus* da preparação. O aquecimento até 115° C., ou o resfriamento prolongado a + 3° C., não supprime a actividade do leite fermentado natural — ou artificialmente, no que concerne seus effeitos sobre o *tonus* da preparação de intestino isolado, facto analogo tendo sido já por nós observado com os filtrados de culturas antigas de bacillo *coli*.

A ingestão prévia de filtrados de culturas antigas de bacillo *coli*,

ou de leite fermentado experimentalmente por esse germe, parece determinar uma maior reactividade do segmento de intestino, o que se pôde averiguar pelas reacções mais promptas e mais energicas, quando dos ensaios *in-vitro* com leite fermentado experimentalmente com bacillo *coli*, em confronto com as experiencias realizadas com intestino de coelhos normaes. O mesmo facto já havia sido por nós observado com os filtrados de culturas antigas de bacillo *coli*.

SUMMARY

Fresh milk, boiled or unboiled, does not have any action on the *tonus* of a preparation of an isolated and perfused rabbit's gut, however it produces a considerable increase in the height of the rhythmic contractions. Soured milk, naturally fermented or by addition of *colon* or *aerogenes* bacilli from 6 to 24 hours at 37° C., may evoke a considerable increase in the *tonus* of the preparation. Both alterations are, however, not so intense as those obtained with filtrates of old cultures of *colon* bacilli, as referred to in previous papers. The action on the *tonus* does not appear to depend on the acidity of the soured milk because neutralised soured milk does not prevent the phenomenon to be present. On the other hand a lactic acid solution in the same concentration as the soured milk — expressed by Dornic degrees — does not increase the *tonus* of the preparation. Heating up to 115° C. or prolonged cooling to + 3° C. does not prevent also the activity of the naturally or artificially soured milk on the *tonus* as we have also described with the filtrates of old cultures of *colon* bacilli. By previous propination to rabbits of filtrates of *colon* bacilli, or artificially fermented milk by the same bacteria, a great increase of intestinal reactions was noticed, as compared with experiments performed upon the intestine of normal rabbits. Identical results were also obtained with filtrates of cultures of *colon* bacilli, as referred to previously.

REFERENCIAS

PACHECO, G. & XAVIER, A. A.

1938. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, **33** (3) : 437.

XAVIER, A. A. & PACHECO, G.

1938. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, **33** (1) : 63 e 73.